



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁵ : A61K 9/16, 9/50, 9/52	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 91/19485 (43) Date de publication internationale: 26 décembre 1991 (26.12.91)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/EP91/01097</p> <p>(22) Date de dépôt international: 12 juin 1991 (12.06.91)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 90/07417 14 juin 1990 (14.06.90) FR</p> <p>(71) Déposants: APLICACIONES FARMACEUTICAS, S.A. DE C.V. [MX/MX]; Heriberto Frias, 1035, Colonia del Valle-Delegación Benito Juárez, 03100 Mexico (MX). TRIPET, Marc [FR/CH]; 51, avenue de Champel, CH-1206 Genève (CH).</p> <p>(72) Inventeurs: ANGELES URIBE, Juan ; Cureno, 181, Valle de Aragon, 57100 Mexico (MX). JOSUE, Garza, Flores ; Tulipanes, 33, Las Margaritas, 54050 Mexico (MX).</p>	<p>(74) Mandataire: MEYLAN, Robert; Bugnion S.A., 10, route de Florissant, Case postale 375, CH-1211 Genève 12 (CH).</p> <p>(81) États désignés: AT, AT (brevet européen), AU, BB, BE (brevet européen), BF (brevet OAPI), BG, BJ (brevet OAPI), BR, CA, CF (brevet OAPI), CG (brevet OAPI), CH, CH (brevet européen), CI (brevet OAPI), CM (brevet OAPI), DE, DE (brevet européen), DK, DK (brevet européen), ES, ES (brevet européen), FI, FR (brevet européen), GA (brevet OAPI), GB, GB (brevet européen), GN (brevet OAPI), GR (brevet européen), HU, IT (brevet européen), JP, KP, KR, LK, LU, LU (brevet européen), MC, MG, ML (brevet OAPI), MR (brevet OAPI), MW, NL, NL (brevet européen), NO, PL, RO, SD, SE, SE (brevet européen), SN (brevet OAPI), SU, TD (brevet OAPI), TG (brevet OAPI).</p> <p>Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i></p>	
<p>(54) Title: INJECTABLE SLOW-RELEASE GALENICAL</p> <p>(54) Titre: FORME GALENIQUE INJECTABLE RETARDEE</p> <p>(57) Abstract</p> <p>A parenterally injectable slow-release composition consisting of solid sized microspheres (5-300 μm) which include a pharmaceutically active substance (such as morphine) contained in spherical structures made of one or more pharmacologically inactive support substances (such as cholesterol) which occur naturally in the recipient organism, are pharmacodynamically inactive at the administered doses of the galenical, have a melting point above 60 °C, and are stable in a solid state in the recipient physiological medium. The galenical can slow down and prolong the effect of active substances which dissolve too quickly in physiological media (acting on the central nervous system or the autonomic nervous system as vasodilators, antihistaminics, hormones, contraceptives, etc.)</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>Formulation à libération retardée destinée à l'administration par injection parentérale, constituée de microsphères calibrées solides (5-300 μm) comprenant une substance pharmaceutiquement active (par exemple: morphine) contenue dans des structures sphériques formées par une ou plusieurs substances-support pharmacologiquement inactives (par exemple: cholestérol) présentes naturellement dans l'organisme receveur, pharmacodynamiquement inactives aux doses d'administration de ladite forme galénique, ayant un point de fusion supérieur à 60 °C et stables à l'état solide dans le milieu physiologique receveur. La forme galénique permet de ralentir et de prolonger l'effet de substances actives trop rapidement solubles en milieu physiologiques (agissant sur le système nerveux central ou neuro-végétatif, comme vasodilatateurs, antihistaminiques, hormones, anticonceptifs...).</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION.

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	ES	Espagne	MG	Madagascar
AU	Australie	FI	Finlande	ML	Mali
BB	Barbade	FR	France	MN	Mongolie
BE	Belgique	GA	Gabon	MR	Mauritanie
BF	Burkina Faso	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
BG	Bulgarie	GN	Guinée	NL	Pays-Bas
BJ	Bénin	GR	Grèce	NO	Norvège
BR	Brésil	HU	Hongrie	PL	Pologne
CA	Canada	IT	Italie	RO	Roumanie
CF	République Centrafricaine	JP	Japon	SD	Soudan
CG	Congo	KP	République populaire démocratique de Corée	SE	Suède
CH	Suisse	KR	République de Corée	SN	Sénégal
CI	Côte d'Ivoire	LI	Liechtenstein	SU	Union soviétique
CM	Cameroun	LK	Sri Lanka	TD	Tchad
CS	Tchécoslovaquie	LU	Luxembourg	TG	Togo
DE	Allemagne	MC	Monaco	US	Etats-Unis d'Amérique
DK	Danemark				

- 1 -

Forme galénique injectable retardée.

La présente invention concerne un procédé pour améliorer le contrôle des propriétés pharmacocinétiques et pharmacologiques d'une substance pharmaceutiquement active injectable, ladite substance pharmaceutiquement active étant susceptible d'être administrée par injection parentérale à un mammifère, ou éventuellement d'autres animaux. Elle concerne également une microsphère solide, non poreuse, d'un diamètre compris entre 5 et 300 μm , comprenant au moins une telle substance pharmaceutiquement active contenue dans une structure sphérique formée par au moins une substance-support pharmacologiquement inactive, ainsi que l'utilisation d'une telle microsphère pour la fabrication d'une formulation destinée à l'administration parentérale par injection.

Art antérieur

Des substances biologiquement actives, faiblement solubles en milieu physiologique, ont déjà été utilisées sous forme de suspension de particules et administrées par injection intramusculaire pour obtenir une dissolution lente, donc un effet prolongé dans l'organisme humain ou animal. Par exemple, des mélanges de norethistérone et de mestranol, sous forme de poudre cristalline, en suspension aqueuse, ont été testés en vue de la fabrication d'un anticonceptif injectable intramusculaire (J. Garza Flores et al, Contraception, mai 1988, Vol. 35, N° 5, 471 - 481).

Probablement à cause des variations de granulométrie et des irrégularités de forme des particules, ces compositions de l'art antérieur présentent en général plusieurs défauts :

- 2 -

- Courbe de libération des substances actives présentant un fort pic juste après l'injection, puis une pente descendante, ce qui augmente la dose totale nécessaire pour obtenir un effet durable suffisant.
- Formation occasionnelle de grumeaux ou croûtes dans la suspension.
- Nécessité d'utiliser des aiguilles hypodermiques de grand diamètre pour éviter le risque d'un blocage en sortie de seringue.

Dans certains cas, le contact direct de la particule active avec le tissu vivant environnant (très forte concentration locale) peut provoquer des réactions inflammatoires ou des lésions.

Des substances ayant une solubilité élevée en milieu physiologique ne peuvent pas être administrées sous cette forme si on désire obtenir un "effet retard". Une méthode connue pour ralentir la dissolution de telles substances est de les enrober ou de les micro-encapsuler.

Le brevet EP N° 257 368 (AMERICAN CYANAMID CO) décrit une composition à usage parentéral constituée de microsphères de graisses et/ou de cires, d'origines naturelle ou synthétique, à bas point de fusion (40° - environ 60°), chargées de particules d'un polypeptide, par exemple une hormone de croissance. Lorsque ces compositions sont injectées à des bovins, l'hormone de croissance voit sa dissolution retardée par l'enrobage de cire ou de graisse, ce qui entraîne une prolongation de sa présence dans l'organisme animal, entraînant une

augmentation de la croissance ou de la lactation. Ces microsphères ont tendance à ramollir et à se déformer, s'agglutiner ou à coalescer lorsque la température ambiante est élevée, notamment dans les pays tropicaux (40-60°), ce qui peut entraîner des problèmes de manipulation ou de stockage.

Comme la proportion de polypeptide actif, dans la particule, est limitée en pratique à 30-40 %, l'injection de ces particules présente également l'inconvénient d'injecter dans l'organisme une quantité de substance-support étrangère à cet organisme (cire d'abeille, graisse d'origine végétale, minérale ou synthétique, etc), au moins de l'ordre de 1,5 - 3 fois celle de la substance active.

D'autres techniques d'enrobage ou de micro-encapsulation ont été utilisées dans l'art antérieur dont certaines sont décrites, par exemple, dans "Encyclopédia of Chemical Technology, 3e édition, volume 15, pages 470 à 493 (1981), JOHN WILEY AND SONS. Les microcapsules ainsi formées contiennent souvent des particules "centrales" de taille très différente, voire pas de particule centrale du tout.

Le brevet EP N° 210 875 (TERAGENIX CORP.) décrit l'injection de microbilles de verre chargées radioactivement dans un corps, par exemple dans le foie, pour traiter localement une tumeur cancéreuse. La présence rémanente de telles billes, après traitement, ne se justifie que dans des cas graves.

L'élimination de la substance-support par les voies métaboliques du milieu intérieur peut être difficile; une telle substance est acceptable pour une administration

- 4 -

orale (et une élimination par les voies digestives) en médecine humaine, mais beaucoup moins pour une injection parentérale en médecine humaine.

On a par ailleurs utilisé des hormones stéroïdes comme moyen de contraception, sous forme d'implants sous-cutanés. Ces implants d'une longueur de 0,5 à 2 cm peuvent être fabriqués par fusion et formage de l'hormone à l'état fondu, pure ou mélangée à un porteur lipoïdique. Ces procédés de fabrication sont décrits par exemple dans WO-88/07816 (Endocon) ou dans le brevet US 4,244,949 (Gupta). La durée d'action de ces implants peut dépasser une année, par contre ce système est malcommode pour des durées d'action souhaitées de quelques semaines seulement. Il nécessite la mise en place par incision chirurgicale ou par trocart, et éventuellement l'enlèvement par excision.

Sommaire de l'invention

Le but de la présente invention est de fournir des formulations à libération retardée pour l'administration par injection parentérale via une aiguille, à l'homme ou à d'autres mammifères, qui permettent une libération contrôlée des substances pharmacologiquement actives sans présenter les inconvénients des suspensions de particules ou des microcapsules de l'art antérieur.

Ce but est atteint grâce à un procédé consistant à mettre ladite substance sous forme de microsphères solides non poreuses d'un diamètre compris entre 5 et 300 microns comprenant au moins une substance pharmaceutiquement active contenue dans une structure sphérique formée par au moins une substance-support pharmacologiquement inactive, ladite substance-support for-

mant la structure sphérique étant naturellement présente dans l'organisme dudit mammifère, étant stable à l'état solide jusqu'à une température d'au moins 60°C et dans le milieu physiologique dudit mammifère, la cinétique de dissolution de la substance-support dans l'organisme du mammifère receveur étant plus lente que la cinétique de libération de la substance active dans ce même organisme, et à séparer lesdites microsphères en fractions calibrées selon leurs diamètres, et grâce à l'utilisation de ces fractions pour la fabrication d'une formulation destinée à l'administration parentérale par injection.

Par stable à l'état solide, jusqu'à 60°C, il faut entendre que non seulement les microsphères ne fondent pas, mais aussi qu'elles ne ramollissent et ne s'agglutinent pas.

Par stable à l'état solide, au sens de la présente invention, il ne faut également pas entendre la stabilité indéfinie que présenterait par exemple une microsphère de verre, mais, suffisamment stable pour que l'ordre de grandeur de la durée de vie dans ce milieu (la disparition des sphères s'opérant par simple dissolution lente ou par attaque chimique métabolique) ne soit pas inférieure à la durée d'action désirée du médicament: en d'autres termes, la cinétique de dissolution de la substance-support dans l'organisme de mammifère receveur doit être plus lente que la cinétique de libération de la substance active dans ce même organisme.

Si on utilise un procédé de pulvérisation-congélation pour la fabrication des microsphères, la substance-support doit être chimiquement stable à sa température de fusion, ainsi qu'à l'état fondu, dans au moins un domaine de température suffisant pour cette opération.

- 6 -

La vitesse de dissolution d'une microsphère dans un milieu-solvant donné est fonction du rayon de la sphère (compte tenu des relations liant volume, surface et rayon d'une sphère). Selon un aspect de la présente invention, le fait d'utiliser des sphères solides non poreuses permet d'avoir une connaissance précise de la relation masse-surface des particules et donc, grâce à une sélection du calibre des sphères, c'est-à-dire du rayon ou d'une répartition de rayons, de maîtriser un paramètre de contrôle du taux de libération du ou des principes actifs administrés.

La vitesse de dissolution des principes actifs dépend également de la structure de la microsphère, et en particulier de l'accessibilité de son intérieur au solvant. Une substance inactive prenant par exemple la structure d'un gel gonflé en milieu physiologique (par exemple une fraction de collagène) ne provoque qu'un faible retard dans la libération des substances actives, alors qu'une substance ayant une structure hydrophobique compacte fournit un effet retard maximal. Selon un autre aspect de la présente invention, la sélection de la molécule déterminant et structurant la microsphère permet d'obtenir une libération des principes actifs retardée, variant de quelques heures à plusieurs semaines.

Si la substance pharmacologiquement active se trouve sous forme de solution solide dans la substance-support ou de suspension pratiquement homogène de particules dispersées, petites (par ex. colloïdes) par rapport au diamètre de la microsphère (10 - 300 μm), sa dissolution est ralentie, en fonction des concentrations respectives. Si la substance active se trouve sous forme

- 7 -

de particules plus grosses, enrobées dans une couche extérieure d'une substance hydrophobe, le début de la dissolution est retardé. Pour des raisons techniques de fabrication, la taille des particules enrobées est limitée par rapport au diamètre des microsphères : dans le procédé de pulvérisation/congélation, il est préférable de limiter la taille des particules à 1/10 de celui des microsphères. L'ajustement de ces différents paramètres permet, selon l'invention, un contrôle précis de la libération des principes actifs.

Cette même précision de contrôle, en évitant les surdosifications ou le besoin de compenser des sous-dosifications, permet de réduire la quantité totale prévue pour l'administration de la ou des substances biologiquement actives à la quantité minimum requise pour obtenir l'effet thérapeutique désiré et de diminuer ainsi le risque de produire chez le malade des effets secondaires indésirables.

Une dose injectable de 200 mg de microsphères, par ampoule, contenant jusqu'à 50 mg de principe actif, est à considérer comme raisonnable.

Certaines substances additives de l'association peuvent ne pas être directement actives sur l'organisme receveur, du moins dans l'application visée, ni constituer la base de la structure sphérique. L'association peut comprendre divers moyens pharmaceutiquement acceptables pour améliorer la stabilité ou l'intégrité chimique des substances ou de l'ensemble de la structure : surfactants, antioxydants, antimicrobien, tampon, etc. En particulier, il peut s'avérer utile d'abaisser un point de fusion ou d'inhiber une réaction de décomposition durant le procédé de fabrication, (par ex. fusioncongélation) des microsphères.

Par rapport aux suspensions de principes actifs purs sous forme de particules de formes irrégulières connues dans l'art antérieur, les microsphères selon la présente invention ont l'avantage d'avoir moins tendance à s'agglutiner et de passer de manière plus fluide par une aiguille hypodermique. D'autre part, des microsphères peuvent être triées et séparées de manière plus fine et plus fiable en fonction de leur taille, que des particules de formes irrégulières.

La forme galénique selon la présente invention peut se présenter sous forme de poudre de microsphères en flacons-ampoules, prête à être mise en suspensions, ou sous forme de suspensions déjà préparées, conditionnées en ampoules injectables, ou directement en seringues, prête à être administrée en médecine humaine ou vétérinaire. Le milieu de suspension peut être de l'eau, une solution saline, une huile contenant les tampons, surfactants, conservants, habituellement utilisés dans les suspensions injectables par les pharmaco-techniciens, ou toute autre substance ou combinaison qui ne menace pas l'intégrité physique et chimique des substances en suspension et qui convienne pour l'organisme qui la recevra. Si l'on souhaite éviter une élévation initiale brusque du taux de principe actif dans le milieu intérieur de l'organisme receveur, on préférera, dans le cas des suspensions prêtes à l'emploi, l'utilisation de vecteurs liquides dans lequel lesdits principes actifs sont pratiquement insolubles. Dans le cas de substances actives partiellement solubles dans le vecteur liquide tiède, mais insolubles à froid, on préférera, sur le plan pharmacologique, éviter la formation de précipités (dit effet de "caking") en réalisant

- 9 -

des formulation présentant séparément les microsphères en poudre et le vecteur liquide qui ne seront mélangés qu'au moment de l'injection.

Dans les applications vétérinaires, où la durée d'effet désirée peut être très longue (par exemple période de lactation de la femelle adulte), on peut utiliser des diamètres de quelques centaines de microns. Si on souhaite limiter le diamètre des aiguilles de seringues d'injection pour le confort du patient, il est bon de limiter le diamètre des microsphères à 300 microns et plus préféablement à 100 microns. Par contre, pour des durées d'effet très courtes (par exemple circadiennes), le diamètre d'une microsphère peut s'abaisser à 5 microns.

Pour la plupart des applications en médecine humaine (durée d'action du principe actif comprise entre un cycle circadien et un cycle mensuel), il est préférable d'utiliser des microsphères dont le diamètre soit compris entre 5 et 100 microns, selon les combinaisons de substances actives/substances-support.

Un tri des microsphères selon leur diamètre peut être réalisé lors de la fabrication à l'aide de procédés connus : par exemple, par séparateurs cycloniques, par tamisage avec suction d'air ou encore par tamisage en milieu aqueux. En pratique, il suffit que plus de 70 % des microsphères aient des diamètres compris entre 70 % et 130 % d'un diamètre spécifié. Si besoin, la courbe de dissolution idéale, déterminée par l'application envisagée, peut être approchée en effectuant un mélange de lots ayant des diamètres différents appropriés. De plus, les particules non conformes aux spécifications peuvent être recyclées.

Des procédés pour mettre un produit solide sous forme de microsphères, par abrasion mécanique, sont connus dans l'état de la technique. D'autres procédés utilisent, par exemple, la mise en suspension du produit à l'état fondu sous forme de microgouttes, sous agitation, dans un vecteur liquide avec lequel ledit produit est non miscible, suivi de la solidification dudit produit. Pour réaliser les microsphères selon la présente invention, on a préféré développer un procédé qui consiste à pulvériser sous pression et/ou à l'aide de gaz chaud, (éventuellement avec vibrations) la substance support destinée à constituer les sphères, à l'état fondu, dans laquelle les substances pharmacologiquement actives ont été dispersées et se trouvent soit à l'état dissous, soit sous forme de particules $< 5 \mu\text{m}$, puis à congeler rapidement le brouillard ainsi formé. Il est cependant difficile de fabriquer des microsphères, contenant des particules solides enrobées, de diamètre $< 2 \mu\text{m}$ par un procédé de pulvérisation-congélation.

Des substances support, pharmacodynamiquement inactives selon l'invention, dont la température de fusion est supérieure à environ 70° et qui sont ou peuvent être rendues thermostables au-dessus de leur point de fusion pour pouvoir subir le procédé de fabrication, permettent de réaliser des microsphères stables (pas de ramollissement, d'agglutination) à des températures ambiantes basses ou moyennes.

Cependant, dans la mesure où le principe actif en suspension supporte des températures élevées sans décomposition il est préférable, pour éviter un risque d'altération des microsphères lors d'une élévation accidentelle importante de température (transport, stockage),

- 11 -

de choisir une substance-support dont la température de fusion est supérieure à 90°C, pour constituer la structure de la microsphère.

Parmi les substances support préférées, on citera comme substances inactives pouvant constituer la structure de microsphères:

1. Coprostérol, dont le point de fusion est 101° C, produit obtenu par métabolisation des stérols et qui participe à la formations des stéroïdes et des acides biliaires.
2. Acide Glycocholique, dont le point de fusion est de 130° C, qui fait partie des sels biliaires.
3. Cholestérol, dont le point de fusion est de 148 - 149° C, principal stérol chez les mammifères, présent dans presque tous les tissus de l'organisme humain, et ses esters.

Il est à première vue surprenant d'injecter du cholestérol en suspension de particules sphériques à un être humain, vue le rôle qu'on lui attribue dans certaines maladies cardiovasculaires. Mais par rapport aux 5-10 gr. naturellement présents à l'état libre dans le milieu physiologique, les 50-200 mg. d'une injection sont une quantité faible. De plus, sa relative inertie métabolique permet de le considérer comme pharmacodynamiquement inactif à ces doses. D'autre part, ses propriétés physiques en fait une excellente substance-support dans le cadre de la présente invention.

- 12 -

Les substances pharmacologiquement actives qui conviennent particulièrement pour ce système galénique sont celles qui 1/ sont solubles (ou réactives) dans les fluides biologiques, 2/ qui, même si elles tendent à se décomposer aux températures très élevées, proches ou supérieures à leur point de fusion, restent physiquement et chimiquement stables au point de fusion de la substance inactive qui sert de structure:

Un exemple est le méthoclopramide, un antiémétique librement soluble dans l'eau.

Un autre exemple est la morphine base, analgésique narcotique, dont le point de fusion est 254 - 256°C, et qui devient physiquement et chimiquement instable vers 200° C. La morphine (particules de l'ordre de 1 µm à 5 µm, ou plus petites) est dispersée dans du cholestérol liquide (TF = 148°C) sans risque de décomposition. Le mélange est pulvérisé, congelé en microsphères. Sous cette forme, la morphine peut, par exemple, être administrée à raison d'une injection quotidienne, en milieu hospitalier, de 50 mg morphine contenus dans 200 mg microsphères/ampoule (dose fortement variable à cause des réactions individuelles à la morphine) ; pour un patient ambulatoire, on préférera adapter la présentation (dose et structure des sphères) pour une injection tous les 2-3 jours, voire hebdomadaire.

Parmi les substances actives trop solubles en milieu physiologique pour pouvoir être administrées à l'état libre en présentant un effet retard, et suffisamment stables à chaud pour être incorporées dans du cholestérol, on citera notamment:

- 13 -

- a) substances agissant sur le système nerveux central (tranquillisants, comme le LORAZEPAM, l'HALOPERIDOL, antiparkinsoniens, comme le BIPERIDEN, le TRIHEXYPHENIDYL HCL, anticonvulsifs, comme le CLONAZEPAM, narcotiques, comme la MORPHINE BASE)
- b) sur le système neurovégétatif (antiémétiques, comme la METHOCLOPRAMIDE, le MALEATE d'ACEPROMAZINE, gastrocinétiques, comme la DOMPERIDONA)
- c) vasodilatateurs, périphériques comme la VINCAMINE, la NYLIDRINE HCL, la FLUNARIZINE, le PIZOTIFENE, la DIHYDROERGOTAMINE, ou bronchiques comme le BROMOHYDRATE le FENOTEROL, le TOLBUTEROL, le CLENBUTEROL, le SALBUTAMOL
- d) antihistaminiques (ASTEMIZOLE, MALEATE de CHLORFENAMINE, AZATADINE)
- e) antagoniste des récepteurs H2, la FAMOTIDINE
- f) plusieurs stéroïdes (DEXAMETHASONE, BETAMETHASONE) conviennent également.

La dissolution de certains analgésiques, en soi peu solubles, comme l'indométacine ou la naproxène, peut être ralentie d'avantage par incorporation dans une structure de cholestérol (ce qui permet d'espacer les injections, en augmentant les doses unitaires).

La présente invention sera mieux comprise à l'aide des figures et des exemples qu'elles illustrent. Elle n'est cependant pas limitée à ces formes d'exécution.

Brèves description des figures

La figure 1 montre le schéma de fabrication de microsphères de cholestérol selon la présente invention.

La figure 2 montre une microphotographie (microscope électronique) de microsphères de cholestérol.

La figure 3 montre la répartition granulométrique d'une fraction de microsphères de cholestérol (diamètre moyen 15 μm)

La figure 4 montre la répartition granulométrique d'une fraction de microsphères de cholestérol (diamètre moyen 25 μm)

La figure 5 représente un montage expérimental pour déterminer la vitesse de dissolution de microsphères.

Les figures 6 et 7 montrent le profil de dissolution de microsphères (fig. 6) de 17- β -estradiol supporté par du cholestérol, comparé au profil de dissolution de cristaux de 17- β -estradiol (fig. 7).

Les figures 8 et 9 montrent le profil de dissolution de microsphères de diazepam supporté par du cholestérol, comparé au profil de dissolution de cristaux de diazepam.

La figure 10 montre les niveaux plasmatiques de diazepam obtenus (chez le lapin) par injection respectivement d'une solution (courbe 0) de cristaux en suspensions (courbe 1) et de microsphères de diazepam/cholestérol (courbe 2).

- 15 -

Les figures 11, 12, 13, montrent les niveaux plasmatiques de 17- β -estradiol obtenus (chez le lapin) par injection respectivement d'une solution (courbe 0) de cristaux en suspensions (courbe 1) et de microsphères de 17- β -estradiol/cholestérol (courbe 2).

Exemple 1 : fabrication de microsphères de cholestérol.

Nous nous référons à la figure 1. De l'azote préchauffé sous pression est envoyé par le tube d'entrée A₁ dans le dispositif pulvérisateur et traverse une zone de chauffage B thermo-réglée où il est porté à une température comprise entre 160 et 190°C, avant d'être admis dans le pulvérisateur D. Le pulvérisateur D est relié par une tubulure à une enceinte C chauffée dans laquelle le cholestérol est maintenu à l'état fondu (T = 150°C) et sous pression d'azote (entrée A₂). Il est entraîné par le courant d'azote et mélangé à celui-ci, pour être pulvérisé en brouillard par la buse de sortie du pulvérisateur D et pénétrer dans la chambre de pulvérisation-congélation F. Un réservoir E contient de l'azote liquide qui s'évapore et pénètre par plusieurs canalisations sous forme de gaz ultra froid, à grande vitesse, dans la chambre de pulvérisation-congélation F, où il rencontre le brouillard de cholestérol. Les gouttelettes, sitôt après leur formation par le pulvérisateur sont entourées d'un courant de gaz glacial qui les cristallise en microsphères et les empêche de toucher les parois avant leur solidification totale. La température à la sortie de la chambre de pulvérisation-congélation est comprise entre - 15°C et - 50°C. La totalité des microsphères produite à l'aide de cette chambre F a une forme sphérique parfaite. A la sortie de cette chambre F se trouvent deux séparateurs cycloniques, G₁, G₂, connus par ailleurs montés en séries.

- 16 -

Les microsphères sont récupérées dans des récipients collecteurs H_1 , H_2 ; les gaz, à la sortie des cyclones, traversent un filtre décontaminant I, dans lequel une légère dépression par rapport à la pression régnant dans le premier cyclone est maintenue à l'aide d'une pompe. La figure 2 montre une fraction de microsphères de cholestérol récupérées, en microphotographie (au microscopie électronique).

Exemple 2 : Répartition granulométrique

Les microsphères de cholestérol, fabriquées dans les conditions opératoires ci-dessus, sont séparées en fractions.

Les figures 3 et 4 montrent les distributions granulométriques de fractions centrées respectivement sur 15 μm et 25 μm .

Exemple 3 : Fabrication de microsphères de 17- β -estradiol/cholestérol.

On applique le procédé de l'exemple 1 à un mélange 17- β -estradiol/cholestérol dans un rapport pondéral 1/9

Conditions opératoires :

Fusion : 149°C en atmosphère d'azote.

Aspersion : par valve, avec pression d'air de 2,5 psi (200 gr/cm²)

Congélation : par air à -20°C, sous pression de 4 kg/cm²

Recouvrement : par cyclones

Sélection : en milieu aqueux et par criblage selon la granulométrie.

- 17 -

Exemple 4 : Fabrication de microsphères de diazepam/
cholestérol.

On applique le procédé de l'exemple 1 à un mélange
diazepam//cholestérol dans un rapport pondéral 1/2.

Conditions opératoires :

Fusion : 138°C en atmosphère d'azote.

Aspersion : par valve, avec pression d'air de 1,5 psi
(100 gr/cm²)

Congélation : par air à -20°C, sous pression de 4
kg/cm²

Recouvrement : par cyclones

Sélection : en milieu aqueux et par criblage selon la
granulométrie.

Exemple 5 : Fabrication de microsphères de caféine/
cholestérol.

On applique le procédé de l'exemple 1 à un mélange
caféine/cholestérol dans un rapport pondéral 20:80.

Conditions opératoires :

Fusion : 165°C en atmosphère d'azote.

Aspersion : par valve, avec pression d'air de 2,0 psi
(140 gr/cm²)

Congélation : par air à -20°C, sous pression de 4
kg/cm²

Recouvrement : par cyclones

Sélection : en milieu aqueux et par criblage selon la
granulométrie.

Analyses comparatives spectrophotométrique UV et IR
avant et après formation de microsphères.

- 18 -

Il est nécessaire de vérifier qu'aucune dégradation chimique des substances n'intervient au cours du processus de fusion-congélation, qui puisse modifier leur action thérapeutique. La comparaison se fait entre la matière première (cristaux) et les microsphères obtenues par fusion-congélation, par analyse spectrophotométrique en UV et en IR. Les graphiques "avant et après" doivent toujours être superposables en UV et généralement IR. Lorsqu'il apparaît des différences dans les courbes d'infrarouge, il convient de vérifier si elles n'ont pas été causées par un phénomène de polymorphisme, en ayant recours à la chromatographie liquide de haute résolution avec arrangement de diodes. Il convient également de recourir à la thermographie, non seulement pour bien cerner les points de fusion, mais aussi pour déterminer s'il y apparaissent des endothermies ou exothermies qui peuvent aussi bien exprimer des modifications structurelles ou un polymorphisme, susceptibles d'avoir un effet sur le processus de formation des microsphères, que les dégradations chimiques produites par le chauffage.

Appareil utilisé en spectrographie en ultraviolet : Hewlett Packard modèle 8452A avec arrangement de photodiodes, avec cellule de quartz ayant un faisceau de 0,1 cm.

Solvants : ethanol pour le 17- β -estradiol et le cholestérol; HCl à 0,1 N pour le diazepam.

Les résultats ne montrent pas de trace d'alération.

Appareil utilisé en spectrophotométrie en infrarouge : Nicolet 205 FT-IR. Milieu de dispersion : bromure de potasse

- 19 -

Chromatographe liquide de haute résolution avec arrangement de diodes : marque : WATERS, avec Photodiode (array detector) mod. Waters 990 et N.E.C. Powermate 2 workstation.

Thermographe : SHIMADZU DSC-50 Calormeter et CR4A workstation.

Les résultats ne montrent aucune altération après la mise en microsphères pour le 17- β -estradiol et le diazepam.

Le montage expérimental pour effectuer les tests de dissolution in vitro est montré par la figure 5. Une cellule à perfusion 1, contenant l'échantillon, est alimentée par un réservoir (agité) de milieu de dissolution 2; les deux sont contenus dans un bain-marie 3. La densité optique du milieu est enregistrée par un spectrophotomètre 4 et le milieu est ramené dans le réservoir. Un piège à bulle 5 et une pompe péristaltique 6 complètent le circuit. Les exemples suivants montrent la reproductibilité comparée des parties initiales des courbes de dissolution de cristaux et de microsphères de granulométrie comparable, d'un même produit. L'appareil utilisé est celui de la figure 5. Plusieurs (de 3 à 6) circuits de mesure (cellules de dissolution et tubulures) contenant des échantillons identiques, sont mis en oeuvre en parallèles par la même pompe péristaltique et mesurés simultanément.

- 20 -

Exemple 5 : Dissolution de microsphères 17- β -estradiol/
cholestérol (1/9):

L'appareil utilisé est celui de la figure No 5
Milieu de dissolution utilisé: H₂O qualité HPLC avec
0.01% de Tween 80
Echantillon: 50mg
Granulométrie: 50 à 100 microns
Intervalles d'échantillonnage: 0,3,6,9,12,24 heures
Longueur d'ondes de spectrophotométrie: 282 nm
Les courbes de dissolution sont montrées dans les
figures 6 (microsphères) et 7 (cristaux).

Exemple 6 : Dissolution de microsphères diazepam/
cholestérol (1/2):

L'appareil utilisé est celui de la figure No 5
Milieu de dissolution utilisé: H₂O qualité HPLC avec
0.01% de Tween 80
Echantillon: 50mg
Granulométrie: 50 à 100 microns
Intervalles d'échantillonnage: 0,1,2,4,8 heures
Longueur d'ondes de spectrophotométrie: 286 nm
Les courbes de dissolution sont montrées dans les
figures 8 (microsphères) et 9 (cristaux).

Exemple 7 : FormulationsFormule No 1

Microsphères de 17- β -estradiol/ cholestérol*	25 mg
Polyéthylène Glycol 800	20 mg
Carbdoxyméthylcellulose sodique	1.66 mg
Polysorbate 80	2.0 mg
Propylparabène	0.14 mg
NaCl	1.2 mg
H ₂ O cbp	1 ml
*équivalents à 2.5 mg de 17- β -estradiol	

Formule No 2

Microsphères de diazepam/cholestérol 33%	33.3 mg
Polyéthylène Glycol 4000	3.0 mg
NaCl	8.5 mg
Alcool de benzyl	9.0 mg
Hydroxide de Soude ou HCl:	suff. pour pH 5-6
H ₂ O cbp	1 ml
*Equivalent à 10mg de diazepam.	

Exemple 8 : Etude des niveaux plasmatiques de 17- β -estradiol/cholestérol chez le lapin

L'étude comprend l'évaluation comparée de l'effet sur les niveaux plasmatiques chez le lapin, produit par l'administration parentérale d'estradiol sous forme d'une solution huileuse (fig. 11), d'une suspension aqueuse de particules d'estradiol (fig. 12), et d'une suspension aqueuse de microsphères (fig. 13) d'estradiol/cholestérol (formule No 1).

- 22 -

A 10 lapins mâles de race Nouvelle Zélande d'un poids moyen de 3.5 Kg on administre une dose unique intramusculaire de 5mg d'estradiol.

L'intervalle d'échantillonnage est de 1,2,4 et 24 heures durant 20 jours, puis à chaque trois jours jusqu'à atteindre 30 jours.

Les prises sont de 2ml par venoponction, sont centrifugées puis gardées à 20 degrés C jusqu'à son analyse par radioimmunoanalyse.

Exemple 9 : Evolution comparative des niveaux plasmatiques de diazepam en solution huileuse, en suspension de cristaux et en suspension de microsphères.

Sujets d'expérimentation: lapins de race Nouvelle Zélande agés d'environ 5 mois et pesant en moyenne 3.7 Kgs.

La prise de référence est de 5 ml de sang par ponction cardiaque, suivie de l'administration intramusculaire de 2 ml de la formule à tester dans le membre inférieur droit (formule N° 2). Les "cristaux" servant à la comparaison sont constitués d'un mélange 1:2 fondu, recongelé et broyé de diazepam/cholestérol.

Les prises à analyser furent prélevées à intervalles de 30 min. durant 2 heures et à intervalles de 60 min. jusqu'à compléter 6 heures. Dans certains cas, en fonction des caractéristiques cinétiques du médicament, il y eut des prises additionnelles.

- 23 -

Des prises à analyser de 2 ml, également prélevées par ponction cardiaque, furent placées en Vacutainer, additionnées d'héparine, centrifugées à 3000 rpm durant 10 min., puis le plasma séparé et congelé en cryotubes à 20 degrés C jusqu'à son analyse.

Conditions Chromatographiques:

Détection UV à 220 nm

Colonne Novapack C₁₈ de 10 microns

Phase mobile: buffer phosphates pH 3.5/acetonitryle
59:41 V/V

Flux: 1.6 ml/min

Standard interne: ibuprofen

La figure 10 montre l'évolution des niveaux plasmatiques jusqu'à 30 heures après l'injection obtenus respectivement par injection d'une solution huileuse (courbe 0), d'une suspension de microsphères selon la formule N° 2 de l'exemple 8 (courbe 2) et d'une suspension équivalente de cristaux (courbe 1). on constate que l'utilisation de microsphères élimine le pic plasmatique initial.

En résumé, l'ensemble des résultats ci-dessus montre que dans la phase initiale de dissolution, des substances pharmaceutiquement actives présentent des valeurs numériques plus reproductibles et un profil de dissolution plus régulier lorsqu'elles sont sous forme d'échantillon de micro-sphères calibrées que sous forme de particules de formes irrégulières. Ceci permet de calculer de manière plus précise une dose pharmaceutiquement efficace. De plus, la disparition, ou du moins la forte diminution du pic initial de dissolution (par rapport à des cristaux ou des particules quelconques) ainsi que le ralentissement et la prolongation globale

du phénomène de dissolution permet de calculer des doses unitaires plus importantes destinées à être administrées à des intervalles de temps plus espacés.

D'autre part, les résultats ci-dessus montrent que l'utilisation de ce type de structure convient aussi bien à la fabrication des médicaments dont la durée d'action est relativement courte, quelques heures à quelques jours (p.e. analgésiques) qu'à des substances dont la durée d'action envisagée est de plusieurs semaines. Parmi ces dernières on peut citer en particulier l'utilisation d'hormones sexuelles (comme la progestérone et le 17- β -estradiol) pour la fabrication d'anticonceptifs destinés à une injection mensuelle ou d'anticonceptifs destinés plus particulièrement à la femme post-partum, ou encore pour la fabrication de médicaments à longue durée d'action, injectables, destinés à la prévention de l'ostéoporose chez la femme ménopausée.

Le procédé de fabrication décrit ci-dessus, les structures sphériques et les formulations obtenues et leur utilisation par voie parentérale par injection ne sont bien entendu pas limitées aux substances données en exemples ci-dessus, mais sont applicables à toutes substances pharmacologiquement actives, chimiquement stables pendant la micronisation, à condition que les modifications pharmacocinétiques que permettent les microsphères (durée brève ou longue selon le diamètre, régularisation des profils plasmatique), présentent un avantage thérapeutique ou de commodité et que les doses à administrer ne dépassent pas un volume raisonnable. On peut choisir le mode d'administration parmi l'injection hypodermique, l'injection sous cutanée, l'injection intramusculaire, l'injection intra-articulaire et l'injection intra-rachidienne, selon l'application envisagée.

REVENDICATIONS

1. Microsphère solide, non poreuse, d'un diamètre compris entre 5 et 300 μm , comprenant au moins une substance pharmaceutiquement active contenue dans une structure sphérique formée par au moins une substance-support pharmacologiquement inactive, ladite substance pharmaceutiquement active étant susceptible d'être administrée par injection parentérale à un mammifère, caractérisée en ce que ladite substance-support formant la structure sphérique est naturellement présente dans l'organisme receveur, est stable à l'état solide jusqu'à une température d'au moins 60°C et dans le milieu physiologique receveur, et en ce que la cinétique de dissolution de la substance-support dans l'organisme du mammifère receveur est plus lente que la cinétique de libération de la substance active dans ce même organisme.

2. Microsphère selon la revendication 1 caractérisée en ce que le diamètre de ladite microsphère est compris entre 10 et 100 μm .

3. Microsphère selon la revendication 2 caractérisée en ce que sa composition comprend également des additifs pharmaceutiquement acceptables.

4. Microsphère selon l'une des revendications 1 à 3, caractérisée en ce que ladite substance-support est choisi parmi les substances chimiquement stables à l'état fondu, que la substance pharmaceutiquement active est choisie parmi les substances chimiquement stables dans la substance-support fondue, et en ce que ladite microsphère est obtenue par la dispersion de la-

- 26 -

dite substance pharmaceutiquement active dans ladite substance-support à l'état fondu, suivi de la pulvérisation du mélange obtenu et la congélation rapide des gouttelettes dans un gaz froid.

5. Microsphère selon la revendication 4 caractérisée en ce que la substance-support est choisie parmi le coprostérol, l'acide glycolique, le cholestérol et les esters de cholestérol.

6. Microsphère selon la revendication 5, caractérisée en ce que la substance pharmaceutiquement active est choisie parmi les substances agissant sur le système nerveux central comme tranquillisant, notamment le LORAZEPAM, l'HALOPERIDOL et le DIAZEPAM, comme antiparkinsoniens, notamment le BIPERIDEN, le TRIHEXYPHENIDYL HCL, comme anticonvulsifs, notamment le CLONAZEPAM, comme narcotiques, notamment la MORPHINE BASE et les dérivés de morphine.

7. Microsphère selon la revendication 5, caractérisée en ce que la substance pharmaceutiquement active est choisie parmi les substances agissant sur le système neuro-végétatif, comme antiémétiques, notamment la METHOCLOPRAMIDE, le MALEATE d'ACEPROMAZINE, comme gastrocinétiques, notamment la DOMPERIDONÀ.

8. Microsphère selon la revendication 5 caractérisée en ce que la substance pharmaceutiquement active est choisie parmi les vasodilatateurs périphériques, notamment la VINCAMINE, la NYLIDRINE, la FLUNARIZINE, le PIZOTIFENE, la DIHYDROERGOTAMINE, et bronchiques, notamment le BROMOHYDRATE, le FENOTEROL, le TOLBUTEROL, le CLENBUTEROL, le SOLBUTAMOL.

- 27 -

9. Microsphère selon la revendication 5 caractérisée en ce que la substance pharmaceutiquement active est choisie parmi les antihistaminiques, et notamment l'ASTEMIZOLE, le MALEATE de CHLORFENAMINE, l'AZATADINE et parmi les antagonistes des récepteurs H₂, notamment la FAMOTIDINE.

10. Microsphère selon la revendication 5 caractérisée en ce que la substance pharmaceutiquement active est choisie parmi les stéroïdes, et notamment la DESAMETHASONE, la BETAMETHASONE, le 17-β-ESTRADIOL.

11. Microsphère selon la revendication 5 caractérisée en ce que la substance pharmaceutiquement active est choisie parmi les analgésiques, et notamment l'INDOMETHACINE et le NAPROXENE.

12. Procédé pour améliorer le contrôle des propriétés pharmacocinétiques et pharmacologiques d'une substance pharmaceutiquement active injectable, ladite substance pharmaceutiquement active étant susceptible d'être administrée par injection parentérale à un mammifère, consistant à :

- Mettre ladite substance sous forme de microsphères solides non poreuses d'un diamètre compris entre 5 et 300 microns contenant ladite substance pharmaceutiquement active dans une structure sphérique formée par au moins une substance-support pharmacologiquement inactive, ladite substance-support formant la structure sphérique étant naturellement présente dans l'organisme dudit mammifère, étant stable à l'état solide jusqu'à une température d'au moins 60°C et dans le milieu physiologique receveur dudit mammifère, la cinétique de dissolution de la substance-support dans l'organisme du

mammifère receveur étant plus lente que la cinétique de libération de la substance active dans ce même organisme.

- Séparer lesdites microsphères en fractions calibrées selon leurs diamètres.

13. Procédé selon la revendication 12, caractérisé en ce que la séparation en fractions est effectuée de manière à ce que plus de 70% desdites microsphères ont des diamètres compris entre 70% et 130% d'un diamètre spécifié.

14. Procédé selon la revendication 13 comprenant les étapes suivantes :

a. dispersion de la substance active dans la substance-support et fusion de la substance-support sous atmosphère inerte.

b. Pulvérisation de la matière fondue en brouillard de gouttelettes sous pression d'atmosphère inerte.

c. Congélation en atmosphère froide.

d. Tri par fraction granulométriques.

15. Procédé selon l'une des revendications 12, 13 ou 14, caractérisé en ce que la substance-support est le cholestérol.

16. Utilisation de microsphères selon l'une quelconque des revendications 1 à 11, calibrées, pour la fabrication d'une formulation destinée à l'administration parentérale par injection.

- 29 -

17. Utilisation selon la revendication 16, caractérisée en ce que le mode d'administration est choisi parmi l'injection hypodermique, l'injection sous-cutanée, l'injection intramusculaire, l'injection intra-articulaire et l'injection intra-rachidienne.

18. Utilisation selon la revendication 16, caractérisée en ce que lesdites microsphères sont présentées sous forme d'une poudre, prête à être mise en suspension au moment de l'emploi dans un vecteur liquide pharmaceutiquement acceptable choisi parmi les solutions aqueuses, notamment une solution saline, et les huiles.

19. Utilisation selon la revendication 16, caractérisée en ce que lesdites microsphères sont présentées sous forme d'une suspension dans un vecteur liquide pharmaceutiquement acceptable dans lequel lesdites substances actives sont sensiblement insolubles.

20. Utilisation de microsphères selon la revendication 1 pour la fabrication d'un anticonceptif destiné à l'injection parentérale mensuelle, caractérisée en ce que ladite formulation comprend des microsphères calibrées de 17- β -estradiol contenues dans une structure de cholestérol.

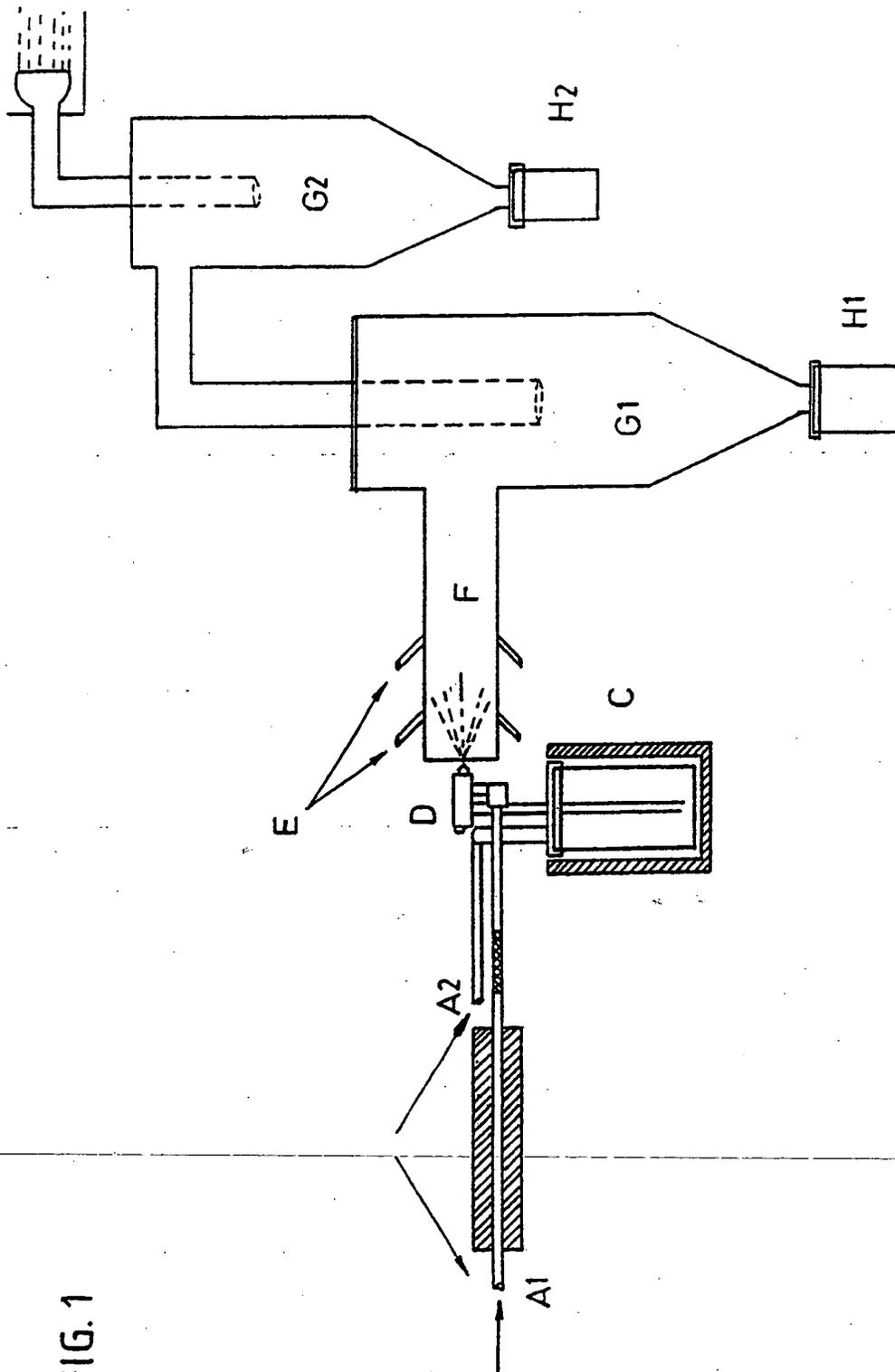


FIG. 1

FIGURE 1 IS DE REMPLACEMENT

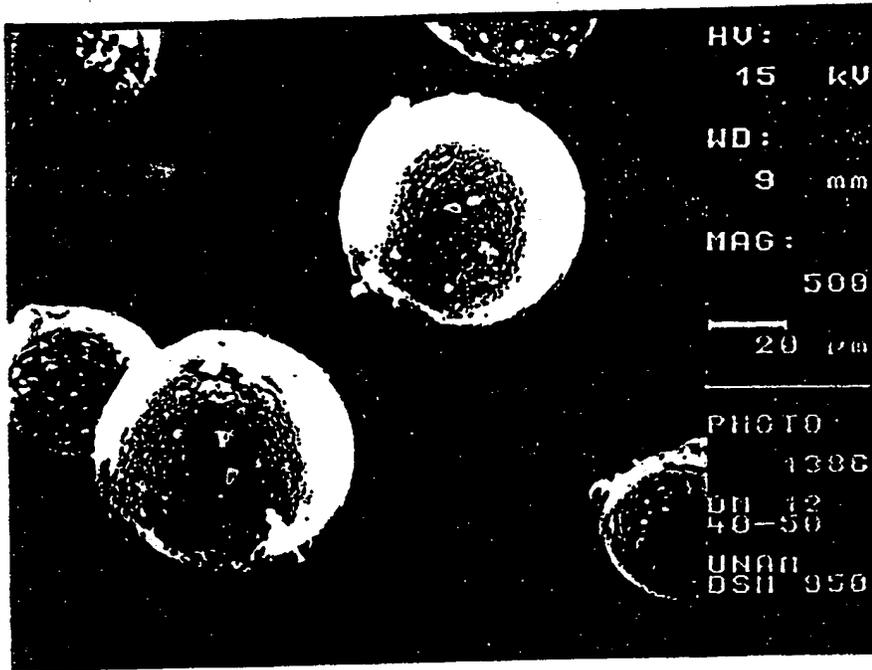
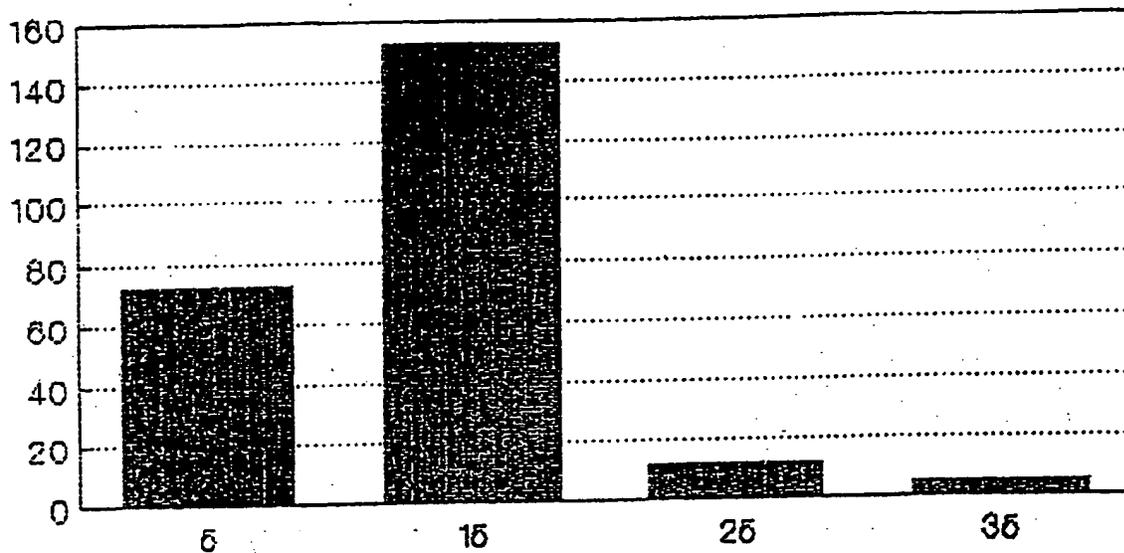


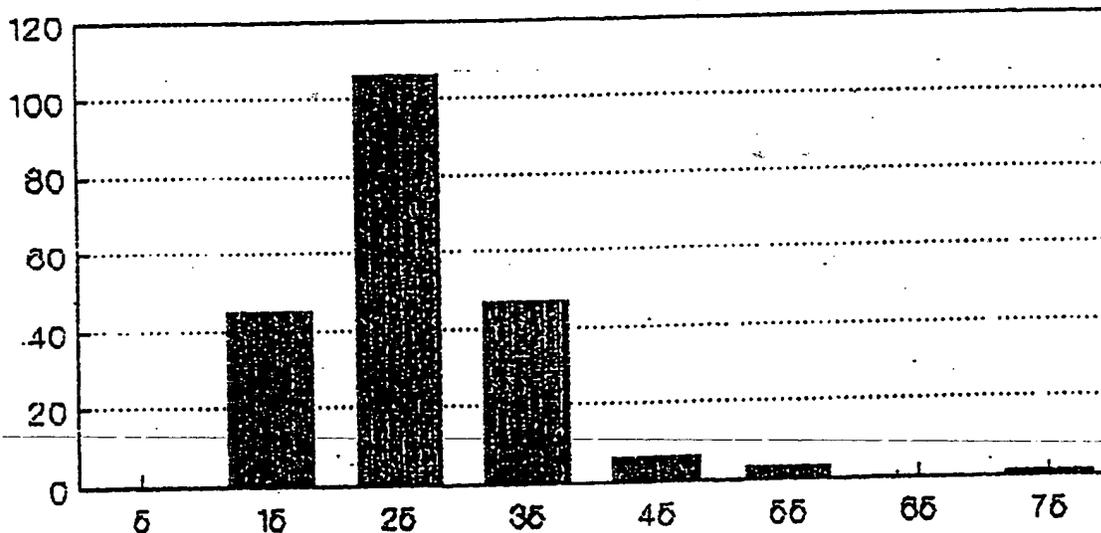
FIG. 2

FIG. 3



DISTRIBUTION GRANULOMETRIQUE

FIG. 4



DISTRIBUTION GRANULOMETRIQUE

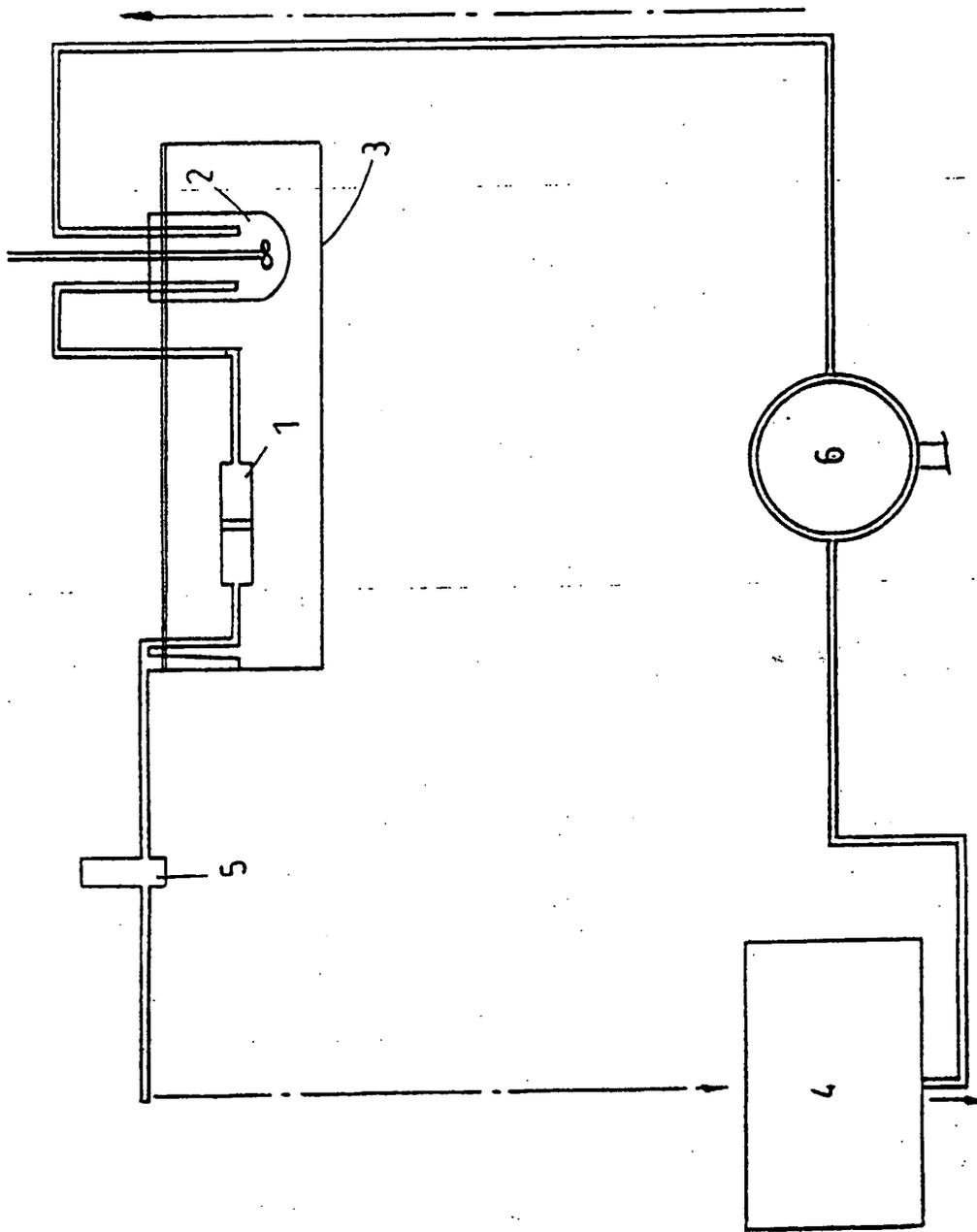
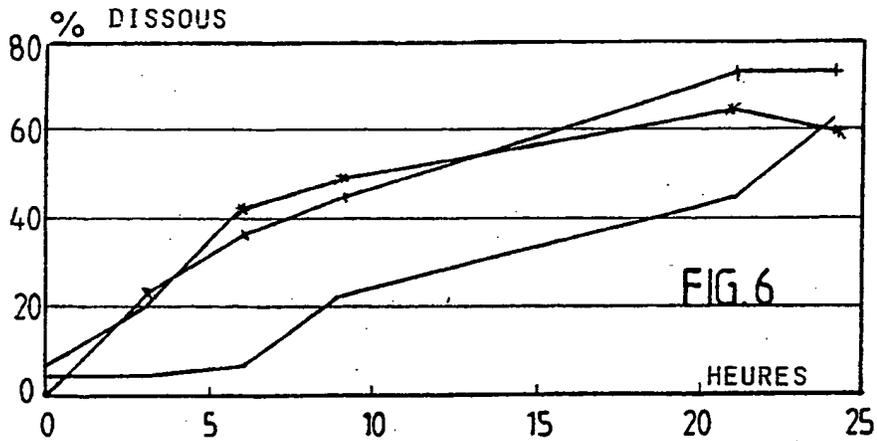


FIG. 5

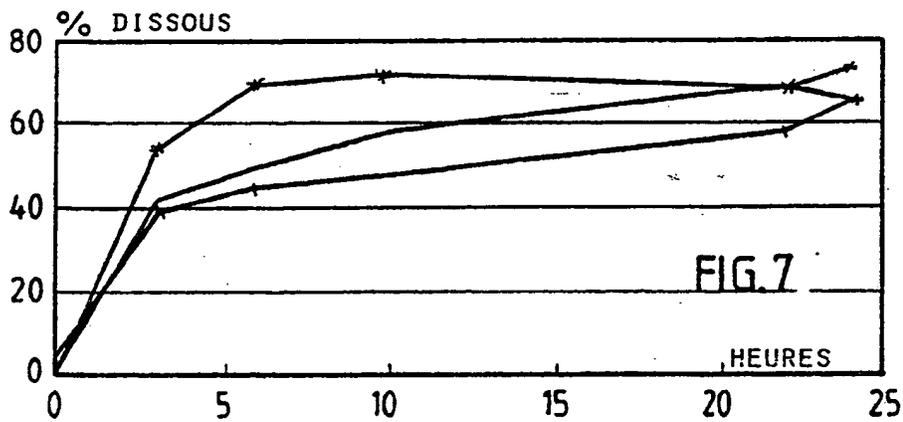
DISSOLUTION DE MICROSPHERES

17-B ESTRADIOL-CHOLESTEROL (10:90)



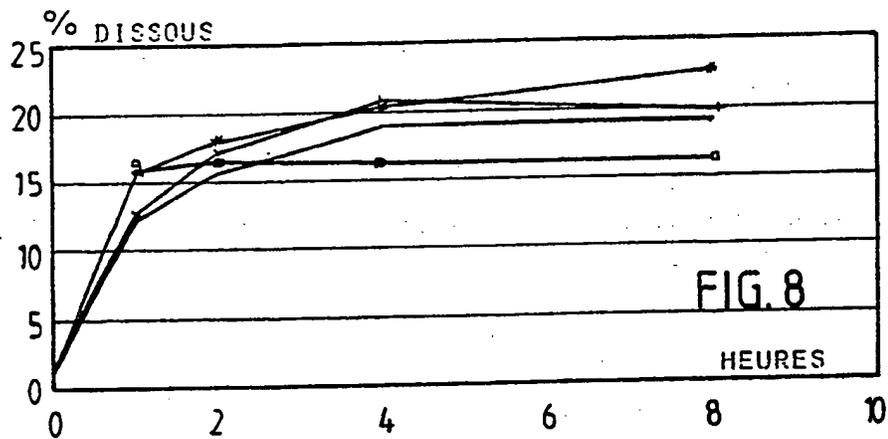
DISSOLUTION MATIERE MICRONISEE

17-B ESTRADIOL-CHOLESTEROL (10:90)

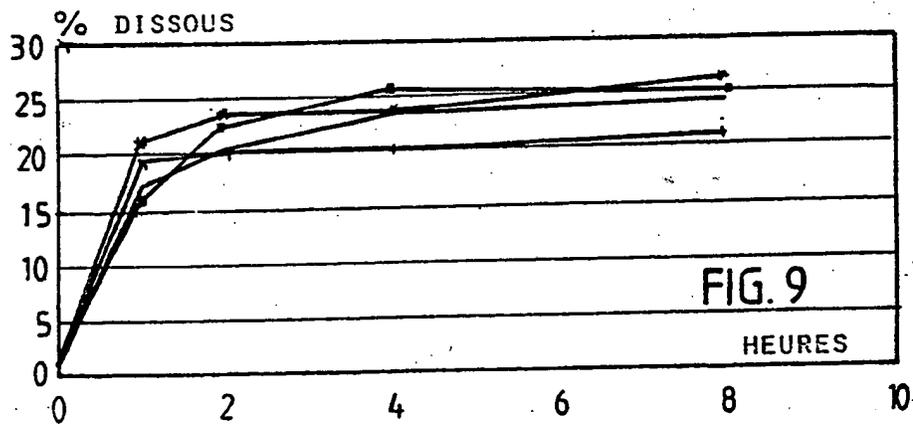


PROFIL DE DISSOLUTION

DIAZEPAM/CHOLESTEROL (1:2), MICROSPHERES

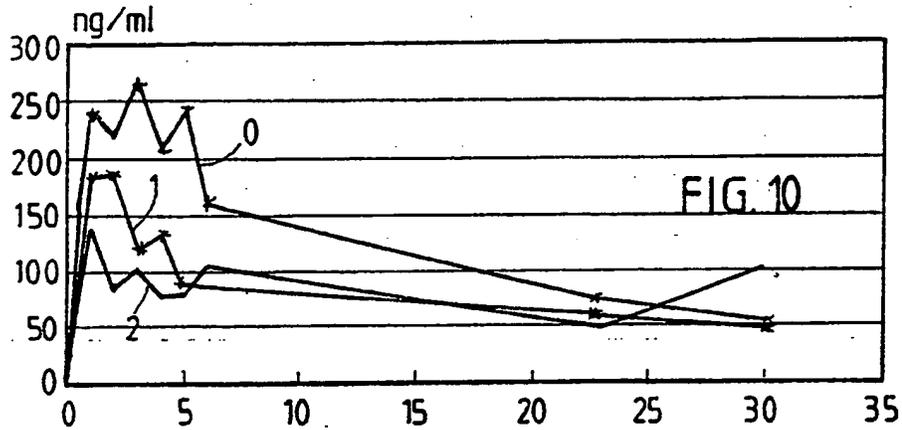


PROFIL DE DISSOLUTION
DE DIAZEPAM, CRISTAUX



NIVEAUX PLASMATIQUES DE DIAZEPAM

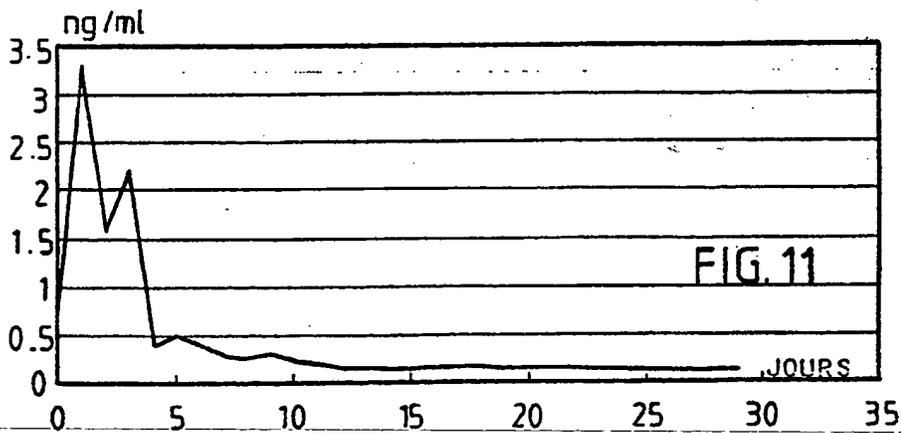
CHEZ LE LAPIN, APRES INJECTION



0: SOL. HUILEUSE 1: CRISTAUX 2: MICROSPHERES

NIVEAUX PLASMATIQUES D'ESTRADIOL

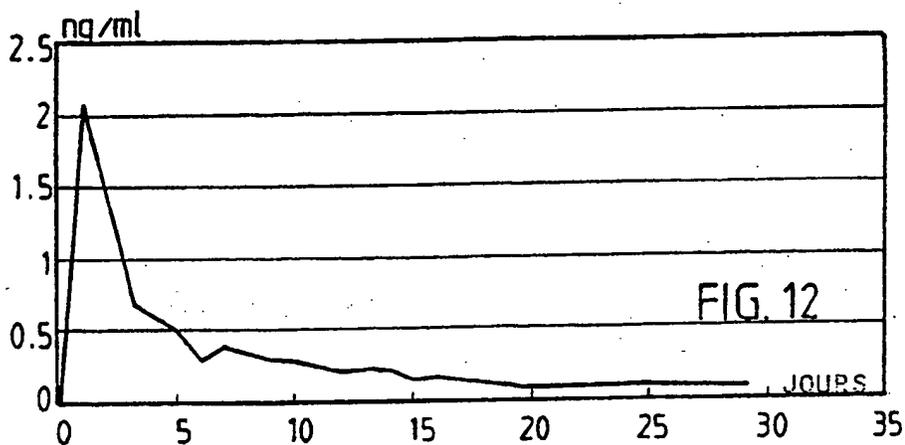
CHEZ LE LAPIN



SOLUTION HUILEUSE

NIVEAUX PLASMATIQUES D'ESTRADIOL/CHOLESTEROL

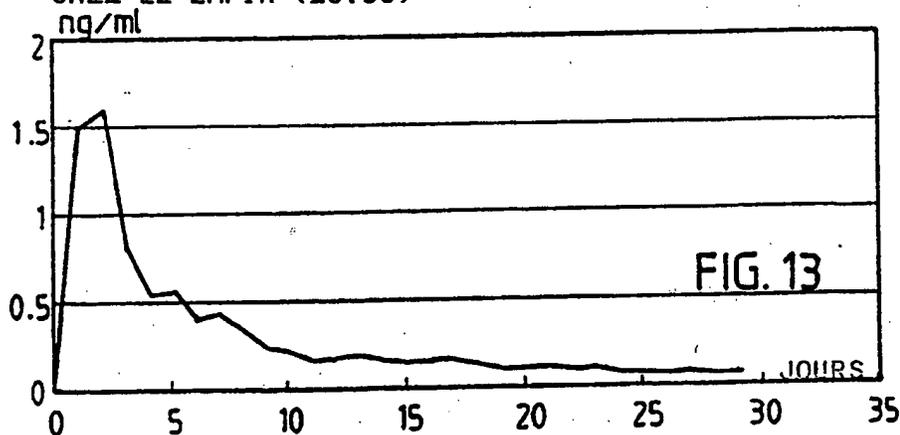
CHEZ LE LAPIN (10:90)



MATIERE MICRONISEE

NIVEAUX PLASMATIQUES D'ESTRADIOL/CHOLESTEROL

CHEZ LE LAPIN (10:90)



MICROSPHERES

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No **PCT/EP 91/01097**

I. CLASSIFICATION F SUBJECT MATTER (if several classification symbols apply, indicate all) ⁶		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC		
Int. Cl. ⁵ A 61 K 9/16 A 61 K 9/50 A 61 K 9/52		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁷		
Classification System	Classification Symbols	
Int. Cl. ⁵	A 61 K	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹		
Category ⁹	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
Y	NO, A, 8807816 (ENDOCON INC.) 20 October 1988, see claims 1,4,11,21; page 9, lines 5-14; example 1 (cited in the application)	1-6, 10, 12-20
Y	FR, A, 2070153 (DU PONT DE NEMOURS) 10 September 1971, see claims 1-3,7,8,12; page 1, line 36 - page 2, line 2; page 3, lines 3-36; page 15, lines 27-35; page 16, lines 10-14, 28-30; page 19, lines 1-15, 28-40; page 20, lines 15-40	1-6,10, 12-20

<p>¹⁰ Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
29 July 1991 (29.07.91)	3 October 1991 (03.10.91)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
European Patent Office		

**ANNEX TO THE INTERNATIONAL SEARCH REPORT
ON INTERNATIONAL PATENT APPLICATION NO.**

EP 9101097
SA 48223

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned international search report. The members are as contained in the European Patent Office EDP file on 17/09/91. The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A- 8807816	20-10-88	US-A- 4748024	31-05-88
		US-A- 4892734	09-01-90
		EP-A- 0357644	14-03-90
FR-A- 2070153	10-09-71	CA-A- 982479	27-01-76
		DE-A, B, C 2051580	06-05-71
		GB-A- 1325209	01-08-73
		US-A- 3773919	20-11-73

EPO FORM P0479

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/82

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande Internationale No

PCT/EP 91/01097

I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) ⁷		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
Int. C1.5	A 61 K 9/16	A 61 K 9/50
	A 61 K 9/52	
II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE		
Documentation minimale consultée ⁸		
Système de classification	Symboles de classification	
Int. C1.5	A 61 K	
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté		
III. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS ¹⁰		
Catégorie ⁹	Identification des documents cités, avec indication, si nécessaire, ¹² des passages pertinents ¹³	No. des revendications visées ¹⁴
Y	WO, A, 8807816 (ENDOCON INC.) 20 octobre 1988, voir revendications 1, 4, 11, 21; page 9; lignes 5-14; exemple 1 (cité dans la demande)	1-6, 10, 12-20
Y	FR, A, 2070153 (DU PONT DE NEMOURS) 10 septembre 1971, voir revendications 1-3, 7, 8, 12; page 1, ligne 36 - page 2, ligne 2; page 3, lignes 3-36; page 15, lignes 27-35; page 16, lignes 10-14, 28-30; page 19, lignes 1-15, 28-40; page 20, lignes 15-40	1-6, 10, 12-20
<p>⁹ Catégories spéciales de documents cités:¹¹</p> <p>"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> <p>"T" document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive</p> <p>"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>"&" document qui fait partie de la même famille de brevets</p>		
IV. CERTIFICATION		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
29-07-1991	03. 10. 91	
Administration chargée de la recherche internationale	Signature du fonctionnaire autorisé	
OFFICE EUROPEEN DES BREVETS	Falk Heck	